

熊本大学学術リポジトリ

Kumamoto University Repository System

Title	エピジェネティクスの分子機構とその制御異常に関する 遺伝医学研究
Author(s)	中尾, 光善
Citation	
Issue date	2007-05
Type	Research Paper
URL	http://hdl.handle.net/2298/3404
Right	

目 次

1．はじめに	2
2．研究組織	2
3．交付決定額（配分額）	2
4．研究発表	3
A．中尾光善	3
A—1．学会誌等	3
A—1—a．欧文論文	3
A—1—b．和文論文	5
A—2．口頭発表	6
A—2—a．学会の招待講演	6
A—2—b．研究集会・シンポジウムの招待講演	8
A—3．出版物	9
A—4．研究成果による工業所有権の出願・取得状況	10
B．佐々木裕之	10
B—1．学会誌等	10
B—1—a．欧文論文	10
B—1—b．和文論文	12
B—2．口頭発表	13
B—2—a．学会の招待講演	13
B—2—b．研究集会・シンポジウムの招待講演	14
B—3．出版物	16
B—4．研究成果による工業所有権の出願・取得状況	17
5．研究成果	17
A．研究成果の概要	17
B．研究成果の詳細	19

１．はじめに

人類遺伝学の学問的な流れの中で、ゲノムの塩基配列と遺伝子に基づく遺伝学の解明が進み、現在では、エピジェネティクスの視点からの遺伝学が重要な課題になっている。ゲノム上に配置された遺伝子は各々の細胞で選択的に ON/OFF されており、エピジェネティクス機構が深く関与するものである。活性化または不活性化される遺伝子の組合せの結果、生体内の種々の細胞は特有の生理機能を遂行すると考えられる。生命現象の中では、発生・再生・老化・発癌・遺伝などは基本的に同じゲノムを有する細胞がエピジェネティックに変化する遺伝現象と捉えることもできる。近年、エピジェネティクスに関わる分子群が明らかになり、発生異常や癌の病因であることが判明した。エピジェネティクスの分子機構は、ゲノムを生理的に修飾する DNA メチル化、DNA とタンパク質の複合体であるクロマチン、クロマチンを構成する多くのタンパク質の翻訳後修飾、さらには細胞核内構造から成立している。本研究課題においては、DNA メチル化酵素およびメチル化 DNA に特異的に作用するメチル化 DNA 結合タンパク質、様々なクロマチン因子を含めたエピジェネティクス機構の全体的な解明を目指した。マウス ES 細胞の分化、癌細胞での DNA メチル化とクロマチンの異常、ゲノムインプリンティングや X 染色体不活性化、エピジェネティクス異常症として、DNMT3B 変異による免疫不全・セントロメア不安定性・顔貌異常を伴う ICF 症候群 (immunodeficiency-centromeric instability-facial anomalies) MeCP2 変異による神経難病のレット症候群の発症機構などを解析した。本研究では、(1)エピジェネティクスの分子機構、(2)エピジェネティクスに関連した遺伝現象と異常症の発生機構を解析することで、これからの遺伝学研究を先駆けて推進することを目的とした。

エピジェネティクス研究を国際的に先導している熊本大学の中尾および国立遺伝学研究所の佐々木という国内最高レベルの研究組織で研究を進めることができた。その成果を多くの国際的な学術雑誌に発表しており、中でも Molecular Cell (中尾) および Nature (佐々木) に発表論文が掲載されたことは特筆すべきことと考えられる。これらの研究成果は進行中にあり、最新のゲノムアレイ技術等を駆使した次世代のエピジェネティクス研究に展開するところである。

２．研究組織

研究代表者：中尾 光善 (熊本大学・発生医学センター・教授)

研究分担者：佐々木 裕之 (国立遺伝学研究所・総合遺伝研究系・教授)

３．交付決定額 (配分額)

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 16 年度	13,200	3,960	17,160
平成 17 年度	12,400	3,720	16,120
平成 18 年度	12,400	3,720	16,120
総計	38,000	11,400	49,400

4 . 研究発表

A . 中尾 光善

A- 1 . 学会誌等

A- 1 - a . 欧文論文

1. M. Nakao, T. Minami, Y. Ueda, Y. Sakamoto, and T. Ichimura. Epigenetic system: a pathway to malignancies and a therapeutic target. **Int. J. Hematol.** 80: 103-107, 2004.
2. M. A. Suico, H. Yoshida, Y. Seki, T. Uchikawa, Z. Lu, T. Shuto, K. Matsuzaki, M. Nakao, J-D. Li, and H. Kai. Myeloid Elf-1-like factor, an ETS transcription factor, up-regulates lysozyme transcription in epithelial cells through interaction with promyelocytic leukemia protein. **J. Biol. Chem.** 279: 19091-19098, 2004.
3. M. A. Suico, Z. Lu, T. Shuto, T. Koga, T. Uchikawa, H. Yoshida, K. Matsuzaki, M. Nakao, J-D. Li, and H. Kai. The regulation of human b-Defensin 2 by the ETS transcription factor MEF is enhanced by PML protein. **J. Pharmacol. Sci.** 95: 466-470, 2004.
4. Y. Uchimura, M. Nakao, and H. Saitoh. Generation of SUMO-1 modified proteins in E. coli: towards understanding the biochemistry/structural biology of the SUMO-1 pathway. **FEBS Lett.** 564: 85-90, 2004.
5. Y. Uchimura, M. Nakamura, K. Sugawara, M. Nakao, and H. Saitoh. Overproduction of eukaryotic SUMO-1- and SUMO-2-conjugated proteins in Escherichia coli. **Anal. Biochem.** 331: 204-206, 2004.
6. T. Ichimura, S. Watanabe, Y. Sakamoto, T. Aoto, N. Fujita, and M. Nakao. Transcriptional repression and heterochromatin formation by MBD1 and MCAF/AM family proteins. **J. Biol. Chem.** 280: 13928-13935, 2005.
7. L-K. Chang, J-Y. Chuang, Y-R. Hong, T. Ichimura, M. Nakao, and S-T. Liu. Activation of Sp1-mediated transcription by Rta of Epstein-Barr virus via an interaction with MCAF1. **Nucleic Acids Res.** 33: 6528-6539, 2005.

8. J. Fan, E. Kodama, Y. Koh, M. Nakao, and M. Matsuoka. Halogenated thymidine analogs restore the expression of silenced genes without demethylation. **Cancer Res.** 65: 6927-6933, 2005.
9. T. Kamikihara, T. Arima, K. Kato, T. Matsuda, H. Kato, T. Douchi, Y. Nagata, M. Nakao, and N. Wake. Epigenetic silencing of the imprinted gene ZAC by DNA methylation is an early event in the progression of human ovarian cancer. **Int. J. Cancer** 115: 690-700, 2005.
10. Y. Arima, M. Nitta, S. Kuninaka, D. Zhang, T. Fujiwara, Y. Taya, M. Nakao, and H. Saya. Transcriptional blockade induces p53-dependent apoptosis associated with translocation of p53 to mitochondria. **J. Biol. Chem.** 280: 19166-19176, 2005.
11. K. Ishihara, M. Oshimura, and M. Nakao. CTCF-dependent chromatin insulator is linked to epigenetic remodeling. **Mol. Cell** 23: 733-742, 2006.
12. Y. Uchimura, T. Ichimura, J. Uwada, T. Tachibana, S. Sugahara, M. Nakao, and H. Saitoh. Involvement of SUMO modification in MBD1- and MCAF1- mediated heterochromatin formation. **J. Biol. Chem.** 281: 23180-23190, 2006.
13. T. Aoto, N. Saitoh, T. Ichimura, H. Niwa, and M. Nakao. Nuclear and chromatin reorganization in the MHC-Oct3/4 locus at developmental phases of embryonic stem cell differentiation. **Dev. Biol.** 298: 354-367, 2006.
14. N. Saitoh, Y. Uchimura, T. Tachibana, S. Sugahara, H. Saitoh, and M. Nakao. *In situ* SUMOylation analysis reveals a modulatory role of RanBP2 in the nuclear rim and PML bodies. **Exp. Cell Res.** 312: 1418-1430, 2006.
15. S. Tsuruzoe, K. Ishihara, Yasuhiro Uchimura, S. Watanabe, Y. Sekita, T. Aoto, H. Saitoh, Y. Yuasa, H. Niwa, M. Kawasuji, H. Baba, and M. Nakao. Inhibition of DNA binding of Sox2 by the SUMO conjugation. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 351: 920-926, 2006.
16. K. Ikeda, K. Iyama, N. Ishikawa, H. Egami, M. Nakao, Y. Sado, Y. Ninomiya, and H. Baba. Loss of expression of type IV collagen $\alpha 5$ and $\alpha 6$ chains in colorectal cancer associated with the hypermethylation of their promoter region. **Am. J. Pathol.** 168: 856-865, 2006.

17. M.A. Suico, H. Nakamura, Z. Lu, H. Saitoh, T. Shuto, M. Nakao, and H. Kai. SUMO down-regulates the activity of Elf4/Myeloid Elf-1-like factor. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 348: 880-888, 2006.
18. S. Kobayakawa, K. Miike, M. Nakao, and K. Abe. Dynamic changes in the epigenomic state and nuclear organization of differentiating mouse embryonic stem cells. **Genes Cells** 12: 447-460, 2007.

A-1-b. 和文論文

1. 市村隆也、坂本快郎、渡邊すぎ子、中尾光善. DNA メチル化とクロマチン修飾の両方向性の経路. **細胞工学**、23: 1144-1149, 2004.
2. 安田二郎、中尾光善. Nedd4 ユビキチンリガーゼファミリーとウイルス出芽機構. **現代医療** 36: 69-74, 2004.
3. 坂本快郎、市村隆也、水流添周、中尾光善. 加齢と DNA メチル化異常. **日本老年医学会雑誌**、42: 137-143, 2005.
4. 青戸隆博、市村隆也、坂本快郎、南 建、中尾光善. 個体発生におけるメチル化 DNA 結合タンパク質の役割. **実験医学**、23: 2107-2114, 2005.
5. 三代 剛、斉藤典子、内村康寛、宇和田淳介、中尾光善、斉藤寿仁. PML と NPM の機能制御と白血病の分子病態. **血液・腫瘍科**、51: 577-585, 2005.
6. 中尾光善. 生命の原点に挑むエピジェネティクス医科学、**実験医学増刊号 (エピジェネティクス医科学、中尾光善、塩田邦郎、牛島俊和、佐々木裕之 編)** 24: 1038-1044, 2006.
7. 斉藤典子、青戸隆博、丁 秀鎮、中津有子、中尾光善. 細胞核構造とその機能、**実験医学増刊号 (エピジェネティクス医科学、中尾光善、塩田邦郎、牛島俊和、佐々木裕之 編)** 24: 1139-1145, 2006.
8. 石原 宏、中尾光善. クロマチンインスレーターの構造と機能、**実験医学増刊号 (エピジェネティクス医科学、中尾光善、塩田邦郎、牛島俊和、佐々木裕之 編)** 24: 1083-1089, 2006.

9. 渡邊すぎ子、上田泰明、坂本快郎、赤星慎一、中尾光善． 構造的クロマチン因子 -遺伝子発現とゲノム安定性の調節-、実験医学増刊号（エピジェネティクス医科学、中尾光善、塩田邦郎、牛島俊和、佐々木裕之 編） 24： 1052-1060， 2006．
10. 斉藤典子、青戸隆博、丁 秀鎮、中尾光善． 細胞核・クロマチンのダイナミクス、蛋白質核酸酵素 51： 302-309， 2006．
11. 青戸隆博、中尾光善． エピジェネティクスと核リプログラミング、蛋白質核酸酵素増刊号（細胞核の世界、米田悦啓、木村 宏、五十嵐和彦、中尾光善 編） 51： 2024-2026， 2006．
12. 斉藤典子、青戸隆博、丁 秀鎮、仁木エミ、中津有子、中尾光善． 核内構造体・クロマチン間領域、蛋白質核酸酵素増刊号（細胞核の世界、米田悦啓、木村 宏、五十嵐和彦、中尾光善 編） 51： 1957-1963， 2006．
13. 日野信次郎、渡邊すぎ子、中尾光善． DNA メチル化を介したエピジェネティック制御機構、実験医学増刊号（印刷中）．

A・2．口頭発表

A・2・a．学会の招待講演

1. 市村隆也、坂本快郎、藤田直之、中尾光善． 新しいエピジェネティクス制御因子 AM/MCAF ファミリーの機能解析、第 63 回日本癌学会総会（ワークショップ：転写制御）平成 16 年 9 月 29 日
2. 渡邊すぎ子、市村隆也、坂本快郎、中尾光善． メチル化 DNA 結合タンパク質による転写抑制と塩基除去修復の分子機構． 第 63 回日本癌学会総会（シンポジウム：がんのエピジェネティクス：分子機構と診断・治療への応用）平成 16 年 10 月 1 日
3. 斉藤寿仁、内村康寛、斉藤典子、中尾光善． 核膜孔構成因子 RanBP2/Nup358 が有する SUMO-E3 活性の解析． 第 77 回日本生化学会大会（ワークショップ：核と細胞小器官の構造と形成）平成 16 年 10 月 14 日
4. 市村隆也、渡邊すぎ子、坂本快郎、藤田直之、中尾光善． メチル化 DNA 結合タンパク質による DNA メチル化からヒストンメチル化への経路． 第 77 回日本生化学会大会（ワークショップ：エピジェネティクスとクロマチン構造）平成 16 年 10 月 14 日

5. 市村隆也、坂本快郎、渡邊すぎ子、藤田直之、中尾光善. MBD1 による DNA メチル化とヒストンメチル化の連携機構. 第 27 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ: DNA メチル化とヒストンメチル化による遺伝子発現制御) 平成 16 年 12 月 8 日
6. 石原 宏、中尾光善. CTCF タンパク質複合体によるクロマチンインスレーター形成機構. 第 27 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ: ゲノムとクロマチンの分子解剖) 平成 16 年 12 月 11 日
7. 内村康寛、斉藤典子、三浦さき子、土山幸美、中村秀明、中尾光善、斉藤寿仁. SUMO 修飾による核複合体リモデリング. 第 27 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ: SUMO 修飾による分子複合体の機能・構造変換) 平成 16 年 12 月 11 日
8. T. Ichimura, K. Ishihara, S. Watanabe, Y. Sakamoto, and M. Nakao, Molecular basis of epigenetic regulation in normal and cancer cells. Asia-Pacific Cancer Conference 2005, September 7, 2005 (Seoul, Korea)
9. 市村隆也、坂本快郎、劉 立峰、渡邊すぎ子、中尾光善. 新しいエピジェネティクス制御因子 MCAF と腫瘍関連性. 第 64 回日本癌学会総会 (シンポジウム: エピジェネティクス研究の診断・治療への展開) 平成 17 年 9 月 15 日
10. 中尾光善. エピジェネティック制御による遺伝現象と病態. 日本人類遺伝学会第 50 回大会・東アジア人類遺伝学会連合第 5 回大会 (シンポジウム: エピジェネティクスの新展開) 平成 17 年 9 月 20 日
11. T. Ichimura, S. Watanabe, Y. Sakamoto, and M. Nakao, Transcriptional repression and heterochromatin formation by MBD1 and MCAF1. 第 78 回日本生化学会大会 (ワークショップ: エピジェネティクスとクロマチン構造) 平成 17 年 10 月 22 日
12. Y. Uchimura, T. Ichimura, J. Uwada, T. Tachibana, M. Nakao, and H. Saitoh, SUMO-3 Interaction with MCAF1/AM Links to Formation of Heterochromatin. 第 78 回日本生化学会大会 (ワークショップ: タンパク質修飾) 平成 17 年 10 月 22 日
13. 中尾光善. エピジェネティクス医科学. 第 23 回日本脳腫瘍学会 (特別講演) 平成 17 年 10 月 30 日

14. 宇和田淳介、内村康寛、中尾光善、斉藤寿仁． 大腸菌 SUMO 修飾システムを用いたクロマチン複合体の制御機序の解析． 第 28 回日本分子生物学会年会（ワークショップ：マルチプロテインコンプレックスの新発現技術）平成 17 年 12 月 7 日
15. 石原 宏、押村光雄、中尾光善． クロマチンリモデリング因子による CTCF 依存性インスレーター形成機構． 第 28 回日本分子生物学会年会（ワークショップ：高次クロマチン構造の形成と境界決定機構）平成 17 年 12 月 7 日
16. 坂本快郎、市村隆也、渡邊すぎ子、古関明彦、中尾光善． メチル化 DNA 結合タンパク質とポリコーン複合体の協働によるエピジェネティックな制御機構． 第 28 回日本分子生物学会年会（ワークショップ：生命現象におけるエピジェネティクスの重要性）平成 17 年 12 月 7 日
17. 青戸隆博、斉藤典子、市村隆也、Austin G. Smith、丹羽仁史、中尾光善． マウス Oct3/4 遺伝子座の分化段階特異的な核内制御機構． 第 28 回日本分子生物学会年会（ワークショップ：蛋白質・核酸の修飾による転写制御を中心とした核内クロストーク）平成 17 年 12 月 8 日
18. 内村康寛、市村隆也、宇和田淳介、須賀原智子、立花太郎、中尾光善、斉藤寿仁． SUMO-2/3 と MCAF1 相互作用によるヘテロクロマチンの制御． 第 28 回日本分子生物学会年会（ワークショップ：SUMO コードの謎を解く）平成 17 年 12 月 9 日
19. 市村隆也、坂本快郎、劉 立峰、渡邊すぎ子、清野 透、伊藤隆明、中尾光善． エピジェネティクス制御因子 MCAF1 によるクロマチン形成と細胞病態． 第 28 回日本分子生物学会年会（ワークショップ：染色体の高次機能領域）平成 17 年 12 月 10 日
20. 中尾光善． エピジェネティクス制御因子の発がん関連性． 第 65 回日本癌学会総会（シンポジウム：転写制御研究とがん治療への展開）平成 18 年 9 月 29 日
21. 石原 宏、押村光雄、中尾光善． クロマチンリモデリング因子による CTCF 依存性インスレーター形成機構． 日本分子生物学会 2006 フォーラム（シンポジウム：蛋白質ネットワークによるエピジェネティックな遺伝子制御とその破綻）平成 18 年 12 月 6 日

A-2・b．研究集会・シンポジウムの招待講演

1. M. Nakao. Role of methylated DNA-binding proteins in transcription and genome stability. The 14th International Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar and the

- 8th Meeting of the Tottori Bioscience Promotion Foundation. Cancer and Epigenetics–Basic Research and Clinical Implication-. October 31, 2004 (Hiroshima, Japan)
2. M. Nakao. Role of DNA methylation and sub-nuclear structure in epigenetic cell regulation. Joint Forum of IFMS, IMEG and Riken CDB. November 22, 2004 (Kobe, Japan)
3. M. Nakao. Methylation-based heterochromatin and genome stability in cancer cells. The 9th Korea-Japan Cancer Research Workshop 2004. December 18, 2004 (Gyeongju, Korea)
4. 市村隆也、中尾光善. MBD1 と MCAF ファミリーによる転写制御とクロマチン形成. 大阪大学蛋白質研究所セミナー 平成 17 年 6 月 27 日
5. 中尾光善. エピジェネティクス医科学：発生・再生と発がんの分子基盤. 熊本造血細胞移植研究会 平成 17 年 7 月 15 日
6. Ichimura, T, Ishihara, K, Watanabe, S, Sakamoto, Y, and Nakao, M. Molecular basis of epigenetic cell regulation. International Symposium on *Genome-wide Epigenetics 2005*. November 9, 2005 (Tokyo, Japan)
7. N. Saitoh, Y. Uchimura, T. Aoto, H. Saitoh, and M. Nakao. SUMO E3 ligase RANBP2 plays a role in formation of sub-nuclear structures. EMBO Workshop, Functional Organization of the Cell Nucleus. May 5, 2006 (Prague, Czechoslovakia)
8. 中尾光善. エピジェネティクス機構による細胞制御と病態. 第 22 回 WAKO ワークショップ(新たな生命科学、エピジェネティクスの可能性) 平成 18 年 11 月 24 日
9. 中尾光善. エピジェネティクス医科学–生命活動の基盤-. 平成 17 年度システム生物医学研究会 平成 18 年 11 月 30 日
10. 中尾光善、渡邊すぎ子. エピジェネティクス機構におけるクロマチンタンパク質の機能解析–メチル化 DNA 結合タンパク質の研究から学んだこと-. 第 4 回クロマチン・フロンティアーズ・ジャパン 平成 18 年 12 月 5 日

A-3 . 出版物

1. 坂本快郎、市村隆也、渡邊すぎ子、中尾光善．メチル化 DNA 結合タンパク質による転写抑制機構、エピジェネティクス(佐々木裕之 編：シュプリンガー・フェアラーク東京)21-29, 2004 (分担) ．
2. 斉藤典子、青戸隆博、中尾光善．細胞核ドメインとエピジェネティクス、細胞核のダイナミクス(竹安邦夫、米田悦啓 編：シュプリンガー・フェアラーク東京)109-119, 2004 (分担) ．
3. 中尾光善、上田泰明、青戸隆博．構造的クロマチン因子による遺伝子発現の調節、エピジェネティクスがわかる(押村光雄 編) わかる実験医学シリーズ、30-36, 2004 (分担) ．
4. 石原 宏、佐々木裕之、中尾光善．クロマチンインスレーターの構造と機能、エピジェネティクスがわかる(押村光雄 編) わかる実験医学シリーズ、63-68, 2004 (分担) ．
5. 渡邊すぎ子、市村隆也、坂本快郎、中尾光善．メチル化 DNA 結合タンパク質の解析、クロマチン・染色体実験プロトコール(押村光雄、平岡泰 編) 実験医学別冊 78-83, 2004 (分担) ．
6. 斉藤典子、青戸隆博、中尾光善．核内構造と動態．細胞核の分子生物学-クロマチン・染色体・核構造- (水野重樹 編) 132-154, 2005 ．
7. 斉藤典子、上田泰明、中尾光善．細胞核プロテオミクス解析 遺伝子医学(疾患プロテオミクスの最前線、戸田年総、荒木令江 編)、284-289, 2005 ．

A・4．研究成果による工業所有権の出願・取得状況

発明の名称：腫瘍の診断剤	出願番号：特願 2005-128990
発明者：中尾光善、市村隆也、伊藤隆明	出願人：国立大学法人熊本大学
出願日：2005 年 4 月 27 日	

B．佐々木 裕之

B・1．学会誌等

B・1・a．欧文論文

1. M. Kaneda, M. Okano, K. Hata, T. Sado, N. Tsujimoto, E. Li, and H. Sasaki. Essential role for *de novo* DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. **Nature** 429: 900-903, 2004.
2. T. Kubota, H. Furuumi, T. Kamoda, K. Iwasaki, N. Tobita, N. Fujiwara, Y. Goto, A. Matsui, H. Sasaki, and T. Kajii. ICF syndrome in a girl with DNA hypomethylation but without detectable *DNMT3B* mutation. **Am. J. Med. Genet.** 129A: 290-293. 2004.
3. T. Ohhata, M. Tachibana, M. Tada, T. Tada, H. Sasaki, Y. Shinkai, and T. Sado. X-inactivation is stably maintained in mouse embryos deficient for histone methyltransferase *G9a*. **Genesis** 40: 151-156, 2004.
4. H. Shirohzu, T. Yokomine, C. Sato, R. Kato, A. Toyoda, W. Purbowasito, C. Suda, T. Mukai, M. Hattori, K. Okumura, Y. Sakaki, and H. Sasaki. A 210-kb segment of tandem repeats and retroelements located between imprinted subdomains of mouse distal chromosome 7. **DNA Res.** 11: 325-334, 2004.
5. W. Purbowasito, C. Suda, T. Yokomine, M. Zubair, T. Sado, K. Tsutsui, and H. Sasaki. Large-scale identification and mapping of nuclear matrix-attachment regions in the distal imprinted domain of mouse chromosome 7. **DNA Res.** 11: 391-407, 2004.
6. M. Kaneda, T. Sado, M. Okano, K. Hata, N. Tsujimoto, E. Li, and H. Sasaki. Role of *de novo* DNA methyltransferases in initiation of genomic imprinting and X-chromosome inactivation. **Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.** 69: 125-129, 2004.
7. Y. Kato, and H. Sasaki. Imprinting and looping: epigenetic marks control interactions between regulatory elements. **BioEssays** 27: 1-4, 2005.
8. T. Yokomine, H. Shirohzu, W. Purbowasito, A. Toyoda, H. Iwama, K. Ikeo, T. Hori, S. Mizuno, M. Tsudzuki, Y. Matsuda, M. Hattori, Y. Sakaki, and H. Sasaki. Structural and functional analysis of a 0.5-Mb chicken region orthologous to the imprinted mammalian *Asc12/Mash2-Igf2-H19* region. **Genome Res.** 15: 154-165, 2005.
9. F. Cerrato, A. Sparago, X. Zou, W. Dean, M. Bruggemann, H. Sasaki, W. Reik, and A. Riccio. The two domain hypothesis in Beckwith-Wiedemann syndrome: autonomous imprinting of the telomeric domain of the distal chromosome 7 cluster. **Hum. Mol. Genet.** 14: 503-511, 2005.

10. K. Hata, M. Kusumi, T. Yokomine, E. Li, and H. Sasaki. Meiotic and epigenetic aberrations in *Dnmt3L*-deficient male germ cells. **Mol. Reprod. Dev.** 73: 116-122, 2006.
11. P. Arnaud, K. Hata, M. Kaneda, E. Li, H. Sasaki, R. Feil, and G. Kelsey. Stochastic imprinting in the progeny of *Dnmt3L*^{-/-} females. **Hum. Mol. Genet.** 15: 589-598, 2006.
12. T. Yokomine, K. Hata, M. Tsudzuki, and H. Sasaki. Evolution of the vertebrate DNMT3 gene family: a possible link between existence of DNMT3L and genomic imprinting. **Cytogenet. Genome Res.** 113 (Special Issue on *Genomic Imprinting*): 75-80, 2006.
13. H. Kobayashi, C. Suda, T. Abe, Y. Kohara, T. Ikemura, and H. Sasaki. Bisulfite sequencing and dinucleotide content analysis of 15 imprinted mouse differentially methylated regions (DMRs): paternally methylated DMRs contain less CpGs than maternally methylated DMRs. **Cytogenet. Genome Res.** 113 (Special Issue on *Genomic Imprinting*): 130-137, 2006.
14. M. Fukasawa, M. Kimura, S. Morita, K. Matsubara, S. Yamanaka, C. Endo, A. Sakurada, M. Sato, T. Kondo, A. Horii, H. Sasaki, and I. Hatada. Microarray analysis of promoter methylation in lung cancers. **J. Hum. Genet.** 51: 368-374, 2006.
15. I. Hatada, M. Fukasawa, M. Kimura, S. Morita, K. Yamada, T. Yoshikawa, S. Yamanaka, C. Endo, A. Sakurada, M. Sato, T. Kondo, A. Horii, T. Ushijima, and H. Sasaki. Genome-wide profiling of promoter methylation in human. **Oncogene** 25: 3059-3064, 2006.
16. Z.-H. Xie, Y.-N. Huang, Z.-H. Chen, A.D. Riggs, J.-P. Ding, H. Gowher, A. Jeltsch, H. Sasaki, K. Hata, and G.-L. Xu. Mutations in DNA methyltransferase DNMT3B in ICF syndrome affect its regulation by DNMT3L. **Hum. Mol. Genet.** 15: 1375-1385, 2006.
17. T. Arima, K. Hata, S. Tanaka, M. Kusumi, E. Li, K. Kato, H. Sasaki, and N. Wake. Loss of the maternal imprint in *Dnmt3L*^{mat^{-/-}} mice leads to a differentiation defect in the extraembryonic tissue. **Dev. Biol.** 297: 361-373, 2006.

1. 佐々木裕之. エピジェネティクスと疾患. Molecular Medicine 41 (増刊号) ヒトゲノム-ヒトの理解と疾病の克服、332-338, 2004.
2. 金田正弘、佐々木裕之. HOT PRESS: DNA メチル化酵素 Dnmt3a が生殖系列でゲノム刷り込み (インプリンティング) を行う. 細胞工学、23: 934-935, 2004.
3. 石原宏、佐々木裕之、中尾光善. クロマチンインスレーターの構造と機能. わかる実験医学シリーズ、注目のエピジェネティクスがわかる、63-70, 2004.
4. 古海弘康、佐々木裕之. シリーズ最新医学講座・転写因子 12: エピジェネティクス制御とその異常. 臨床検査、48: 1673-1679, 2004.
5. 熊木健治、佐々木裕之. 幹細胞とゲノムインプリンティング. バイオインダストリー、22(2): 29-34, 2005.
6. 佐々木裕之. ゲノムインプリンティング: 新しい潮流をもたらしたスーパーモデル (Overview). Molecular Medicine、42: 146-148, 2005.
7. 秦健一郎、佐々木裕之. 生殖系列におけるインプリント成立機構. Molecular Medicine、42: 158-163, 2005.
8. 佐々木裕之. エピジェネティクスと疾患-はじめに. 医学のあゆみ、215: 105, 2005.
9. 佐々木裕之. 進化を促進するエピジェネティクス. 現代思想、34-2: 112-118, 2006.
10. 鈴木智広、佐々木裕之. ゲノム DNA メチル化解析法. 細胞工学別冊 実験プロトコルシリーズ マウス表現型解析プロトコル、160-166, 2006.
11. 金田正弘、佐々木裕之. 生殖細胞とゲノムインプリンティング. 実験医学 24 (増刊号) エピジェネティクス医科学: 生命のプログラムを解読する、1166-1171, 2006.
12. 佐々木裕之、石野史敏、牛島俊和、久保田健夫. エピジェネティクスがもたらす可能性: なぜいま注目されるのか (座談会). 科学、27: 74-81, 2007.
13. 佐々木裕之、富澤信一. エピジェネティクスの話: 三毛猫の模様からがん治療まで. ファルマシア、43: 310-314, 2007.

B・2 . 口頭発表

B・2・a . 学会の招待講演

1. 佐々木裕之. エピジェネティクスと疾患. 第 11 回日本遺伝子診療学会大会 (シンポジウム: ゲノム医科学 1) 平成 16 年 9 月

2. 佐々木裕之、金田正弘. ゲノムインプリンティングの確立と維持における DNA メチル化とヒストン修飾の使い分け. 第 27 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ: DNA メチル化とヒストンメチル化による遺伝子発現制御) 平成 16 年 12 月
3. T. Sado, Y. Hoki, and H. Sasaki. Antisense regulation at the *Xist* locus. 第 27 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ: DNA メチル化とヒストンメチル化による遺伝子発現制御) 平成 16 年 12 月
4. 佐々木裕之. エピジェネティック制御と個体発生. 第 38 回日本発生生物学会 (ワークショップ: 個体発生・細胞分化に関わるエピジェネティクス制御) 平成 17 年 6 月 2-4 日
5. 佐々木裕之. ゲノム刷り込みと個体発生. 日本人類遺伝学会第 50 回大会 (シンポジウム: エピジェネティクスの新展開基礎から臨床まで) 平成 17 年 9 月
6. 佐々木裕之. ゲノムインプリンティングの仕組みを探る. 第 28 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ: 生命現象におけるエピジェネティクスの重要性) 平成 17 年 12 月
7. 佐渡敬、大畑樹也、保木裕子、佐々木裕之. *Xist* 遺伝子座におけるアンチセンス制御機構の理解に向けて. 第 28 回日本分子生物学会年会 (ワークショップ: 細胞核機能と RNA ダイナミクス) 平成 17 年 12 月
8. 佐々木裕之. アレルギー疾患とエピジェネティクス (特別講演 2: 第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会) 平成 18 年 10 月
9. 佐々木裕之. エピジェネティクスと発生. 第 143 回 日本獣医学会大会, 平成 19 年 4 月

B・2・b . 研究集会・シンポジウムの招待講演

1. H. Sasaki, M. Kaneda, T. Sado, M. Okano, T. Hata, N. Tsujimoto, and E. Li. Role of *de novo* DNA methyltransferases in initiation of genomic imprinting and X-chromosome inactivation. The 69th Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology “Epigenetics”, Cold Spring Harbor, June, 2004 (New York, USA)
2. 金田正弘、佐々木裕之. ゲノムインプリンティング確立における *de novo* DNA メチル化酵素 Dnmt3a, Dnmt3b の役割. 第 19 回哺乳動物遺伝研究会 平成 16 年 6 月

3. H. Sasaki. Essential role for de novo methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. Satellite Symposium of the JSAR Annual Meeting 2004 “Current Status and Perspectives in Reproductive Biology and Biotechnology”. September, 2004 (Kyoto, Japan)
4. H. Sasaki, M. Kaneda, T. Sado, M. Okano, T. Hata, N. Tsujimoto, and E. Li. Essential role for de novo methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. Genomic Imprinting-2004 Workshop, September, 2004 (Montpellier, France)
5. 佐々木裕之. ゲノムインプリンティングの機構: マウスからのアプローチ. 2004 年度愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所公開シンポジウム「ゲノムインプリンティングと発達障害」平成 16 年 12 月
6. H. Sasaki, M. Kaneda, T. Yokomine, K. Hata, T. Sado, M. Okano, and E. Li. Evolution of the DNA methyltransferase family genes and their role in genomic imprinting. Harwell Imprinting Conference 2005, April, 2005 (Oxford, UK)
7. H. Sasaki. Epigenetics in Reproduction and Development. AACR Workshop on the Human Epigenome, Lansdowne, June, 2005 (Virginia, USA)
8. H. Sasaki, M. Kaneda, T. Yokomine, K. Hata, T. Sado, M. Okano, and E. Li. Role of de novo methyltransferases in male and female gametogenesis and genomic imprinting. Epigenetics and the Dynamic Genome, June-July 2005 (Cambridge, USA)
9. 佐々木裕之. ゲノムインプリンティングにおける DNA メチル化の役割. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「染色体 DNA のメチル化修飾の形成、維持とその異常」平成 17 年 6 月
10. 佐々木裕之. ゲノムインプリンティングの機構と発生への影響を探る. New Insights on Molecular Genetics of Growth Disorders 2005, 平成 17 年 6 月
11. H. Sasaki. Essential function of de novo DNA methyltransferase family in genomic imprinting. Workshop on Mammalian Oogenesis and Epigenetic Modification, October, 2005 (Kazusa, Japan)
12. H. Sasaki. Role of de novo DNA methylation in gametogenesis and genomic imprinting. International Symposium on Germ Cells, Epigenetics, Reprogramming and Embryonic Stem Cells, November 2005 (Kyoto, Japan)

13. 佐々木裕之. 配偶子形成におけるゲノムインプリントの確立機構. 日本生殖医療エンジニアリング研究会・第1回学術集会 平成17年12月
14. 佐々木裕之. 哺乳類のゲノムインプリンティングの機構を探る. 第3回日本癌学会カンファレンス「動物モデルによる新時代のがん研究」平成18年3月
15. 佐々木裕之. ゲノムインプリンティングの機構と個体発生. 千里ライフサイエンスセミナー「クロマチン・ダイナミックスと高次生命現象」平成18年3月
16. 佐々木裕之. ここまで分かったゲノムインプリンティング. 第20回モロシヌス研究会 平成18年6月
17. 佐々木裕之. ゲノムインプリンティングの機構とポリコーム群. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「ポリコーム超分子複合体を介した細胞記憶の制御メカニズム」平成18年10月
18. 佐々木裕之. マウス生殖細胞におけるゲノム刷り込み機構. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「生殖細胞形成と減数分裂」平成18年11月
19. H. Sasaki. DNA methyltransferases in genomic imprinting and transposon silencing in the mouse germ cells. International Genomic Imprinting Workshop 2006, November 2006. (Tokyo, Japan)
20. K. Hata, T. Arima, S. Tanaka, E. Li. K. Shiota, N. Wake, and H. Sasaki. Placental defects in mice lacking maternal methylation imprints. International Genomic Imprinting Workshop 2006, November 2006 (Tokyo, Japan)
21. 佐々木裕之. 生殖細胞におけるゲノムインプリンティングと反復配列のサイレンシング. 第4回クロマチン・フロンティアーズ・ジャパン, 平成18年12月

B-3 . 出版物

1. 佐々木裕之編. エピジェネティクス、Springer Reviews シリーズ (シュプリンガー・フェアラーク東京) 2004.

2. H. Sasaki. DNA methylation in epigenetics, development and imprinting. In: *Encyclopedia of Genetics, Genomics, Proteomics and Bioinformatics* (eds. Dunn, M., Jorde, L., Little, P. & Subramaniam, S.), John Wiley & Sons, Chichester 2005.
3. 佐々木裕之. エピジェネティクス入門-三毛猫の模様はどう決まるのか. 岩波科学ライブラリー、2005.
4. H. Sasaki, and F. Ishino. (eds.) *Genomic Imprinting* (Special Issue of *Cytogenet, Genome Res.*), S. Karger AG, Basel 2006.
5. 平澤竜太郎、佐々木裕之. DNA メチル化. 再生医療教科書シリーズ、第 3 巻再生医療のための分子生物学 (仲野徹・赤池敏宏監修)、80-96, 2006.
6. 久須美真紀、佐々木裕之. 生殖・発生とエピジェネティクス. 図説 ART マニュアル (改訂第 2 版) (森崇英, 久保春海, 岡村均編)、492-496, 2006.
7. T. Watanabe, Y. Totoki, H. Sasaki, H. Imai, and N. Minami, Analysis of small RNA profiles during development. *Methods Enzymol.* (in press).

B・4 . 研究成果による工業所有権の出願・取得状況

なし

5 . 研究成果

A . 研究成果の概要

発生・再生・老化・発癌・遺伝などの重要な生命現象の分子基盤として、エピジェネティクス機構が重要な役割を果たすことが理解されてきた。エピジェネティクス機構には、DNA メチル化酵素とメチル化 DNA 結合タンパク質、ヒストン修飾酵素、クロマチン構造因子、クロマチンリモデリング因子、クロマチンインスレーター、SUMO 等を含むタンパク質修飾システムなどが含まれる。エピジェネティクスの分子機構および制御異常について、以下のような成果が得られた。以上、エピジェネティクスの分子機構、制御異常としてのヒト疾患の発症機序について新たな発見が得られて、全容解明へ大きな進展があったと考えられる。

- (1) メチル化 DNA 結合タンパク質 MBD1 の転写抑制ドメインに相互作用する MCAF1 及び MCAF2 を同定し、MCAF1-SETDB1 (ヒストンメチル化酵素) が転写抑制とヘテロクロマチン形成に

必要であることを初めて見出した。

- (2) タンパク質の SUMO 修飾機構を解析するために、大腸菌内で SUMO、SUMO 化酵素、標的である基質タンパク質化を共発現する新しい方法を構築した。
- (3) メチル化 DNA 結合タンパク質 MBD1 に相互作用する MCAF1 が SETDB1 (ヒストンメチル化酵素) をリクルートすることで転写抑制とヘテロクロマチン化がなされる。SUMO 修飾された MBD1 が MCAF1 と効率的に結合することを見出した。
- (4) ゲノム上の境界配列 (インスレーター) に結合する CTCF が、クロマチンリモデリング因子 CHD8 と協働することで、インスレーター機能 (エンハンサー遮断効果) を果たすこと、ゲノムインプリンティングに関わることを初めて見出した。
- (5) 細胞の増殖分化に関わる転写因子 Sox2 の SUMO 修飾による制御機構を明らかにし、Sox2 の SUMO 修飾は標的である Fgf4 遺伝子プロモーターへの結合を阻害することを見出した。
- (6) マウスの ES 細胞の神経分化において、PML ボディー及びヘテロクロマチンで構成されるクロモセンターの詳細な動態を見出した。Oct3/4 遺伝子座では、ヒストンのアセチル化とメチル化、DNA メチル化のマークが分化段階に特異的になされることを見出した。
- (7) 細胞内タンパク質の SUMO 修飾部位を同定する新しい方法 (in situ SUMO 化反応) を構築して、SUMO E3 酵素である RanBP2 が核膜 (核膜孔) および遺伝子発現に関わる PML ボディーの形成に必要であることを見出した。
- (8) 生殖細胞特異的な遺伝子ロックアウトマウスを用いて、雌雄の配偶子形成過程でインプリント遺伝子を DNA メチル化するのは DNMT3A という酵素であることを初めて見つけた。この酵素は DNMT3L という補助因子と協調して標的をメチル化する。
- (9) DNMT3A または DNMT3L の欠損により母性インプリントを獲得できなかった卵子は、正常な受精能を示すものの、インプリント遺伝子発現異常により必ず流産することが分かった。その原因の一部は胎盤の形成異常にあることも突き止めた。
- (10) DNMT3A または DNMT3L を欠損した雄の生殖細胞ではインプリント遺伝子のメチル化異常と共にトランスポゾンの活性化が見られ、減数分裂期の精母細胞が死滅して無精子症になることが分かった。
- (11) 免疫異常を伴う ICF 症候群は DNMT3B 遺伝子の変異によって生じる遺伝病である。そのうちのいくつかの変異は直接酵素活性には影響を与えないが、DNMT3L などの因子との相互作用が阻害されていることを見つけた。また、DNMT3B に変異のない症例が存在することを明らかにし、この疾患には複数の原因遺伝子があることを示した。
- (12) インプリンティング関連疾患 Beckwith-Wiedemann 症候群の原因領域には独立な制御を受ける 2 つのインプリントサブドメインがあることを見出した。
- (13) マイクロアレイを用いてヒト遺伝子プロモーターのメチル化状態を網羅的に解析する方法を開発し、肺がんなどのサンプルに適用した。その結果、メチル化異常を示すいくつかのプロモーターが同定され、本法の有用性が示唆された。

B．研究成果の詳細

以下、発表論文の複写をもって成果の詳細とする。